Extrait de la *Revue d'Hygiène et de Médecine infantiles*, t. II, n° 2, 1903

LE CONTRÔLE BIOLOGIQUE DU Vaccin Antivariolique

PAR

M. le D[r] C. GORINI

Professeur de bactériologie à l'École royale supérieure d'agriculture de Milan.





PARIS

O. DOIN, ÉDITEUR

8, PLACE DE L'ODÉON, 8

—

1903

Extrait de la *Revue d'Hygiène et de Médecine infantiles*, t. II, n° 2, 1903

LE CONTRÔLE BIOLOGIQUE DU Vaccin Antivariolique

PAR

M. le Dr C. GORINI

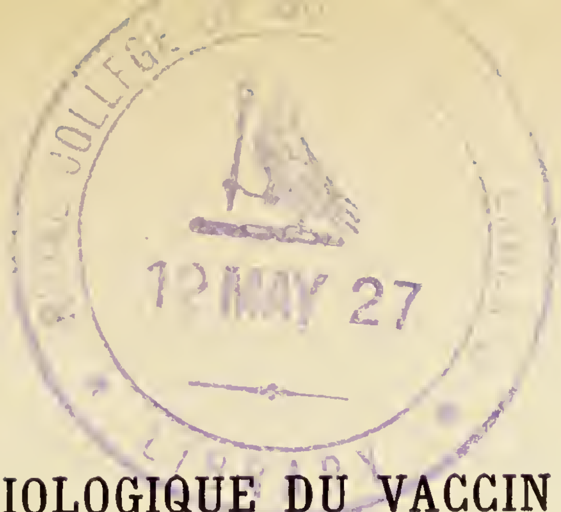
Professeur de bactériologie à l'École royale supérieure d'agriculture de Milan.





PARIS
O. DOIN, ÉDITEUR
8, PLACE DE L'ODÉON, 8

1903



LE CONTROLE BIOLOGIQUE DU VACCIN ANTIVARIOLIQUE

PAR M. LE Dr C. GORINI,

Professeur de bactériologie à l'École royale supérieure d'agriculture de Milan.

Il n'est pas besoin de beaucoup de mots pour démontrer l'utilité, ou plus exactement la nécessité de contrôler le vaccin antivariolique avant de s'en servir. Elle ressort clairement des deux considérations suivantes :

1° Un vaccin impur est à même de nuire fortement à la santé des individus vaccinés, en raison des infections secondaires qu'il peut déterminer ;

2° Un vaccin inactif, ou insuffisamment actif, ne confère pas du tout ou pas assez l'immunité contre la variole.

En 1898, j'ai proposé une méthode de contrôle du vaccin au moyen d'inoculations cornéennes sur le lapin [1]. Comme, d'un côté, d'autres méthodes de contrôle ont été depuis lors préconisées et que, d'un autre côté, j'ai eu l'occasion de faire de nouvelles recherches [2] relatives à la mienne, recherches dont les résultats sont venus non seulement confirmer les constatations précédentes, mais encore y ajouter de nouveaux faits qui ne sont négligeables, je crois le moment opportun pour reprendre la question et exposer ma méthode d'une façon plus complète en la comparant aux autres et en l'accompagnant de figures explicatives.

*
* *

Les qualités que nous devons contrôler dans un vaccin sont sa pureté et son efficacité. Dans les Instituts vaccinogènes et les Instituts de contrôle, on a l'habitude de contrôler la pureté au moyen de l'examen bactériologique, l'efficacité au moyen d'inoculations cutanées sur les génisses. Voyons ce que les deux modes de contrôle peuvent nous révéler.

Examen bactériologique. — En soumettant un vaccin aux cultures bactériologiques, l'on peut déterminer le nombre et l'espèce des germes cultivables qui s'y trouvent, mais non pas leur virulence. Or, ce qu'il importe d'assurer dans un vaccin, c'est l'absence de germes étrangers capables de produire des infections secondaires ; peu importe qu'il contienne de grandes quantités d'espèces banales ou même des bactéries pathogènes atténuées dans leur virulence.

Par conséquent, ni la numération des germes, ni leur identification ne peuvent fournir des critériums suffisants de pureté, si elles ne s'accompagnent pas de l'épreuve de leur virulence.

Cette épreuve se fait naturellement sur les animaux habituellement employés comme sujets d'expérience, et nous savons que la virulence varie toujours suivant l'espèce animale sur laquelle l'épreuve est pratiquée : par conséquent, même ce critérium n'aurait pas une valeur absolue pour l'homme.

Pour éviter ces causes d'incertitude et pour simplifier l'épreuve de la pureté, quelques Instituts ont adopté le système de ne livrer au public que des vaccins contenant un nombre minimum de bactéries banales et absolument exempts d'espèces suspectes [3].

Mais pour arriver à ce degré d'épuration, il faut prolonger de beaucoup la durée de conservation du vaccin dans la glycérine. Or, dans ce cas, on court le risque grave d'employer un vaccin *trop atténué dans son activité immunisante.*

Inoculations cutanées sur la génisse. — Les inoculations cutanées sur la génisse nous permettent de juger de l'activité du vaccin seulement dans le cas où l'inoculation donne un résultat positif.

Quand cependant un vaccin ne produit pas d'effet sur une génisse, on ne saurait, pour ce fait seulement, le déclarer sans efficacité, car il y a des génisses qui se montrent absolument réfractaires à l'infection artificielle. C'est là un point acquis depuis longtemps et qui comporte plusieurs explications.

Certains auteurs attribuent cet état réfractaire aux circonstances atmosphériques ; d'autres, à l'âge, à la race, à l'état de santé, à une immunité innée de l'animal ; d'autres encore, à un vaccin spontané antérieur, que les génisses auraient contracté, ou bien avant d'être admises à l'Institut vaccinogène, ou bien pendant la période de stabulation préparatoire à l'Institut.

Cette excessive prédisposition des génisses à l'infection par la vaccine naturelle peut même faire naître quelques doutes sur la valeur des résultats positifs des inoculations artificielles, tout comme la prédisposition particulière des cobayes à la tuberculose spontanée doit nous rendre prudents dans l'appréciation des résultats que donnent, chez ces animaux, les inoculations artificielles de matériaux tuberculeux.

Il me semble, dès lors, très opportun de recommander que, pour contrôler l'activité d'un vaccin, on fasse l'épreuve au moins sur une paire de génisses et qu'on isole celles-ci, de manière que les génisses vaccinifères ne cohabitent pas avec celles qui sont destinées au service de contrôle. A plus forte raison je ne crois pas à l'abri de reproches l'habitude suivie dans plusieurs Instituts vaccinogènes, d'essayer les vaccins sur de petits carrés de peau réservés sur les génisses employées à la production en grand du vaccin, qui servent ainsi en même temps de vaccinifères et de réactifs d'autres vaccins.

Il faut également se rappeler que la virulence du vaccin est subordonnée à l'espèce animale sur laquelle l'épreuve est pratiquée et que la réceptivité de la génisse pour la vaccine est de beaucoup supérieure à celle de l'homme.

En résumé, les méthodes communément appliquées au contrôle du vaccin comportent les inconvénients suivants :

1° La valeur du critérium de la pureté ou de l'efficacité du vaccin dépend toujours des animaux sur lesquels on expérimente, et elle ne saurait dès lors être absolue pour l'homme ;

2° La détermination du degré d'efficacité d'un vaccin n'est guère possible dans les cas où l'épreuve ne produit chez les génisses aucun effet positif ;

3° Le contrôle présente certaines difficultés techniques et économiques, touchant *a*) la préparation des cultures bactériologiques nécessaires ; *b*) l'inoculation de plusieurs animaux pour l'essai de la virulence des germes étrangers ; *c*) l'inoculation d'une ou de plusieurs génisses pour chaque vaccin.

Si l'on ajoute à cela que le résultat des essais ne peut être fourni qu'au bout d'une semaine au moins, il n'y a pas lieu de s'étonner que le contrôle du vaccin soit le plus souvent négligé et qu'on sente le besoin de recourir à des moyens plus sûrs et plus simples pour atteindre le but.

Le moyen le plus radical serait de contrôler le vaccin sur l'homme lui-même ; mais s'il est permis de recourir à cet *experimentum crucis* pour vérifier l'efficacité du vaccin, il n'en saurait être de même pour en essayer la pureté. En outre, l'essai sur les enfants pourra bien être fait utilement dans les salles de vaccination publique, lorsqu'on aura quelques doutes sur l'activité d'un vaccin ; mais dans les Instituts vaccinogènes et de contrôle, il augmenterait de beaucoup les difficultés pratiques du contrôle, car, comme l'observent très bien Benoit et Roussel, on ne peut pas adjoindre une Maternité à chaque Institut.

Au reste, l'expérience nous dit que l'enfant nouveau-né ne constitue pas le réactif idéal du vaccin ; la variole des générateurs, leur vaccination même à longue distance du moment de la conception, à plus forte raison la vaccination de la mère pendant la grossesse, etc., confèrent au nouveau-né une immunité relative qui se traduit chez lui par un développement de pustules vaccinales moindre que chez les sujets de deux ou trois ans ; c'est au point que ces derniers étaient préférés comme vaccinifères à l'époque de la vaccination jennérienne (Benoit et Roussel).

Par conséquent, puisqu'il faut forcément recourir à l'emploi d'animaux, le premier inconvénient cité, c'est-à-dire la valeur *relative* du critérium de la pureté et de l'efficacité du vaccin, demeure inévitable dans n'importe quelle méthode. Il reste donc à voir si l'on peut éviter ou, du moins, diminuer les autres inconvénients.

*
* *

Les méthodes qui ont été récemment proposées pour le contrôle du vaccin sont, que je sache, au nombre de trois, savoir, par ordre de date :

1° Inoculations dans la cornée du lapin (1898) ;

2° Inoculations cutanées sur le lapin (méthode Calmette et Guérin, mars 1901 [4]) ;

3° Inoculations cutanées sur le cobaye (méthode Benoit et Roussel, juin 1901 [5]).

Ces trois méthodes présentent cet avantage qu'on peut les appliquer à des animaux de plus petite taille que la génisse : la partie technique et économique du contrôle se trouve par là très simplifiée (dépenses moindres, facilité plus grande d'achat, d'entretien, de traitement et d'isolement des animaux).

A ce point de vue, les trois nouvelles méthodes sont équivalentes et préférables au même titre à la méthode appliquée aux génisses.

La méthode d'inoculations cornéennes se différencie cependant des autres par ce fait que celles-ci se pratiquent à peu près suivant la technique habituelle des inoculations cutanées et se basent sur l'observation macroscopique de l'éruption cutanée, tandis que la première nécessite une technique particulière et se base, non seulement sur des observations macroscopiques, mais encore sur des observations microscopiques, nécessitées par ce que l'altération macroscopique produite par le vaccin dans la cornée n'est pas aussi caractéristique et aussi évidente que celle de la peau.

La méthode d'inoculation cornéenne se trouve donc être un peu plus compliquée que les autres. Mais, à mon avis, elle l'emporte sur celles-ci par plusieurs avantages.

*
* *

Pour mieux faire comprendre les difficultés, mais aussi les avantages de ma méthode, il convient que j'expose sommairement en quoi elle consiste. Pour les détails qu'elle comporte, je renvoie le lecteur à ma précédente publication.

Avec une petite aiguille lancéolée très tranchante, préalablement stérilisée, on pratique sur la partie centrale de la cornée, *le plus superficiellement possible* et de façon à n'intéresser que presque uniquement l'épithélium, une ou plusieurs piqûres en pochette, dans lesquelles on inocule le vaccin.

Quand le vaccin est normal, tant au point de vue de l'activité qu'au point de vue de la pureté, on observe, à la suite de l'inoculation, les altérations suivantes :

Altérations macroscopiques. — Aux points d'inoculation, on constate tout d'abord un épaississement de l'épithélium de la cornée, ensuite une ulcération de l'épithélium même sans concomitance de phénomènes inflammatoires, à l'exception d'une légère opacité ou, pour mieux m'exprimer, d'une ternissure superficielle (*appannamento*) de la cornée environnante. L'on peut, par conséquent, distinguer deux stades : un premier stade (Pl. XI, fig. 3) accusant des proéminences épithéliales, qui commencent à appa-

raître vingt-quatre heures après l'inoculation et qui durent jusqu'au deuxième jour, et un deuxième stade (Pl. XI, fig. 4) présentant de petits ulcères épithéliaux accompagnés de ternissure de la cornée et apparaissant vers le troisième jour qui suit l'inoculation.

La suite de l'ulcération doit être négligée. En effet, celle-ci une fois obtenue, il peut se produire, même quand on a employé des vaccins assez purs et surtout si l'incision a pénétré un peu profondément dans le tissu conjonctif cornéen, un approfondissement de l'ulcération épithéliale, suivi de complications phlogistiques plus ou moins graves.

Altérations microscopiques. — A partir du commencement du premier stade, on constate aux points d'inoculation une hyperplasie de l'épithélium et l'apparition des corpuscules vacciniques caractéristiques (*cytoryctes vaccinae* de Guarnieri[6]), corpuscules dont la nature et la valeur fournissent encore matière à discussion, mais dont la constance et la *spécificité** ont été reconnues par des savants si nombreux et si autorisés, y compris les adversaires de la théorie parasitaire, qu'elles ne sauraient être plus longtemps mises en doute.

Pendant les trois premiers jours, le foyer vaccinique est totalement ou presque totalement exempt de leucocytes ; ceux-ci ne commencent leur immigration que les jours suivants.

L'examen microscopique de ces altérations peut être fait par la méthode ordinaire des coupes, avec fixation préalable des cornées au sublimé acétique et coloration à l'hématoxyline de Delafield, ou par un autre procédé convenable (Pl. XIII, fig. 7).

Cependant dans les cas où il faut abréger la durée du contrôle, on peut, surtout si on a l'œil habitué à voir les corpuscules vacciniques dans les coupes, recourir à la méthode que j'ai appe-

*. Par le mot *spécificité*, je n'entends pas dire que les corpuscules vacciniques soient les agents spécifiques du vaccin, mais tout simplement que ces corpuscules ne peuvent être obtenus par un moyen autre que le vaccin actif. Ni les lésions mécaniques, ni les irritations chimiques, ni la *glycérine*, ni le *vaccin inactif*, ni les *microbes étrangers au vaccin*, ni les virus de la fièvre aphteuse, de la rougeole, de la scarlatine, de la rage etc., ne sont à même de produire sur la cornée des altérations histo-pathologiques susceptibles d'être confondues avec les lésions vaccinales. (Voir mes travaux précédents et le deuxième mémoire de Wasielewsky qui donne un aperçu complet des nombreuses expériences de contrôle faites par les différents auteurs pour établir la spécificité des *cytoryctès vaccinae.*)

lée méthode *du raclage*; elle consiste à observer directement des lambeaux d'épithélium frais, enlevés par raclage des proéminences ou des petits ulcères de la cornée et dissociés dans une solution physiologique de chlorure de sodium teinte à la safranine (Pl. XIII, fig. 8).

On peut, de cette façon, donner au plus tard trois jours après l'inoculation, une réponse sur l'activité d'un vaccin normal.

Ce résultat des inoculations cornéennes, que nous pouvons appeler *résultat normal*, peut se trouver modifié dans les trois cas suivants :

1° Quand les incisions ont pénétré trop profondément dans le tissu conjonctif de la cornée ou bien quand elles ont été pratiquées trop près de la marge de la cornée, à proximité des vaisseaux sanguins. Dans ces cas, il peut arriver que, même si le vaccin était d'une pureté normale, il survienne, dès les premiers jours, des phénomènes d'irritation locale d'une certaine intensité et d'une certaine durée.

2° Quand le vaccin est impur, c'est-à-dire qu'il renferme à proprement parler des germes pyogènes virulents (car, comme je l'ai démontré dans mon travail précédent, les impuretés ordinaires, inévitables, du vaccin ne sont pas susceptibles de troubler la manifestation des altérations propres du vaccin). Dans ce cas, il se produit, dès les premiers jours, des complications phlogistiques toujours graves de la cornée, de la conjonctive et parfois même d'autres parties de l'œil.

3° Quand le vaccin est affaibli. Dans ce cas, le processus vaccinique est ralenti et faible; les proéminences sont presque imperceptibles, au point de passer inaperçues; l'ulcération de la cornée apparaît parfois d'emblée au bout de quatre, cinq ou six jours.

Dans les trois cas en question, on constate qu'aux modifications des altérations macroscopiques correspondent des modifications des altérations microscopiques, c'est-à-dire, il y a immigration leucocytaire si le vaccin est impur (Pl. XII, fig. 6), et retard dans l'apparition des corpuscules vacciniques si le vaccin est affaibli. Mais si, dans ces cas, l'examen macroscopique ne peut fournir aucune indication utile sur l'activité du vaccin, l'examen microscopique, ainsi qu'il résulte de mes expériences, permet presque toujours d'arriver à des résultats positifs, même quand il s'agit de vaccin affaibli ou de vaccin impur : il suffit

d'attendre que la fin du processus vaccinal retardé (vaccin atténué) ou la rémission des phénomènes phlogistiques (vaccin impur) permettent de constater la présence des corpuscules vacciniques. Je me permets de rappeler, à ce propos, que j'ai pu observer ces corpuscules sur des cornées inoculées depuis huit jours et que Wasielewsky[13] les a rencontrés même vingt-et-un jours après l'inoculation. C'est en prévision de cette éventualité que je recommande d'inoculer au moins trois lapins, c'est-à-dire six cornées pour chaque vaccin. En procédant ainsi, on constitue une réserve pour répéter l'examen ultérieurement, quand l'examen microscopique exécuté dans les trois premiers jours donne un résultat négatif. Si, dans les cas en question, l'examen par la méthode du raclage ne donne pas de résultats satisfaisants, il faut naturellement avoir recours à l'examen par la méthode des coupes.

Il arrive aussi fréquemment qu'en essayant un même vaccin, ou peu actif, ou impur, sur un certain nombre de cornées, on constate que quelques-unes de ces dernières réagissent d'une manière normale ou presque normale. Ce fait s'explique, d'un côté, par le manque d'homogénéité absolue de la lymphe, et de l'autre, par la quantité minime de la matière employée dans les inoculations de la cornée.

Enfin, si en aucune des cornées inoculées, on n'arrive à aucun moment à constater l'existence de lésions vacciniques microscopiques, on peut se considérer comme autorisé à rejeter le vaccin en examen, ou pour inefficacité absolue, ou pour impureté trop prononcée, suivant les cas.

*
* *

Telle est, brièvement exposée, la méthode des inoculations cornéennes. Voyons maintenant, en la comparant aux autres méthodes, quels en sont les mérites. Les expériences poursuivies jusqu'à ce jour me permettent de lui en attribuer les suivants : *a*) Constance et précision plus grandes pour le contrôle de l'efficacité ; *b*) possibilité de contrôler, *par voie biologique*, la pureté en même temps que l'efficacité du vaccin ; *c*) rapidité plus grande du résultat. Examinons à part ces divers points.

a) *Constance et précision des résultats.* — Les inoculations cutanées sur le lapin ont le même défaut, et peut-être à un

degré plus prononcé, que les inoculations cutanées sur les vaches : elles ne fournissent pas de critérium sûr, dans le cas où le vaccin ne produit pas d'effet. La cause en pourrait bien résider, non pas dans une infection vaccinique antérieure, possible chez les génisses, mais dans une moindre réceptivité naturelle du lapin.

Déjà Calmette et Guérin[7] ont été amenés à déclarer que seuls les vaccins très actifs donnent lieu chez le lapin à de belles éruptions cutanées. D'autre part, les observations de Denier[8], Benoit et Roussel[9], Antony[10] et les miennes[11] tendent à démontrer que l'inoculation cutanée sur le lapin donne des résultats trop irréguliers et trop insuffisants pour qu'on puisse appliquer cette méthode au contrôle de la virulence du vaccin.

Les inoculations cutanées sur le cobaye pèchent, suivant les mêmes auteurs qui les avaient préconisées pour le contrôle du vaccin, par le défaut opposé. « Des constatations ultérieures et réitérées nous amènent à la notion que le cobaye, s'il prend fort bien le vaccin, n'est pas un bon réactif de sa virulence, précisément parce qu'il le prend trop bien ; nous avons vu des vaccins logiquement atténués et dont l'atténuation était prouvée par les inoculations à l'homme et à la génisse, produire sur les cobayes adultes de superbes éruptions[12]. »

Les inoculations cutanées nous exposent donc à l'une des deux erreurs suivantes : ou bien de juger inactif un vaccin actif, si le contrôle en a été fait sur les génisses ou sur les lapins ; ou bien d'attribuer une activité normale à un vaccin atténué, si l'essai en a été fait sur des cobayes.

Or j'ai précisément des motifs de croire qu'avec les inoculations cornéennes, il est possible, ou du moins assez facile, d'éviter les deux erreurs. Voici en effet le résultat de mes observations :

α) En ce qui concerne la constance des résultats, j'ai constaté que tous les vaccins (au nombre de plus de 70) qui devaient, avec raison, être actifs, donnaient sur la cornée un résultat nettement positif (ne fût-ce qu'à l'examen microscopique), même alors que sur la peau des génisses et des lapins ils avaient produit un résultat nul ou incertain. Au moyen de ma méthode j'ai pu, en outre, déceler l'activité de vaccins qui avaient été déclarés inactifs sur les génisses par des directeurs d'Instituts vaccinogènes. Cela s'explique lorsqu'on considère que les méthodes des inoculations cutanées, qui ne comportent pas l'exa-

men microscopique des altérations histo-pathologiques, n'offrent pas le moyen de déterminer les résultats éventuellement douteux des éruptions.

β) En ce qui concerne la précision des résultats, j'ai constaté que tous les vaccins qui devaient être considérés avec raison comme affaiblis, donnaient bien un résultat positif, surtout à l'examen microscopique, mais que les altérations qu'ils avaient provoquées pouvaient, par un œil exercé, se distinguer facilement de celles plus précoces et plus intenses données par les vaccins qui devaient logiquement être considérés comme plus énergiques.

De plus, j'ai remarqué que l'inoculation, sur six cornées, de certains vaccins très vieillis et par conséquent très atténués, ne me donnait pas de résultat positif sur toutes les cornées; sur certaines cornées, les vaccins demeuraient sans effet, même huit jours après l'inoculation.

Ces résultats différents s'expliquent par la minime quantité de vaccin qu'il faut pour pratiquer l'inoculation cornéenne : si, en effet, les germes vacciniques sont déjà rares dans la matière employée, il peut n'y en avoir pas du tout dans de petites portions de lymphe.

Cette considération même nous fait entrevoir en outre la possibilité de recueillir, au moyen d'inoculations cornéennes, des indices suffisants pour présumer qu'un vaccin, quoique non affaibli, a été excessivement dilué ou qu'il manque d'homogénéité par défaut de préparation. Il suffit que, pour cela, sur six cornées inoculées avec ce vaccin, certaines donnent l'effet normal des vaccins énergiques, tandis que d'autres fournissent un résultat tout à fait négatif.

Il est de toute évidence qu'on ne peut s'attendre à pareille précision des résultats dans les inoculations cutanées, car pour celles-ci on emploie une forte dose de vaccin dans chaque incision.

b) *Contrôle biologique simultané de la pureté.* — Un second avantage que la méthode des inoculations cornéennes présente sur les autres consiste en ce qu'elle fournit la possibilité de juger non seulement de l'efficacité, mais aussi de la pureté du vaccin, c'est-à-dire de la présence ou de l'absence de germes pyogènes virulents ; ce sont là les points qu'il nous importe de vérifier le plus communément. Or, il est évident qu'on ne saurait déduire des inoculations cutanées un critérium quelconque relatif à l'état

de pureté du vaccin, et ce, en raison de la nature du tissu cutané riche en vaisseaux et par conséquent sujet à des précoces infiltrations leucocytaires, ou encore en raison de la facilité d'infection du champ opératoire : deux conditions avec lesquelles on n'a pas à compter dans l'inoculation sur la cornée, car celle-ci ne possède pas de vaisseaux et se trouve être très bien protégée contre les contaminations extérieures.

En effet, dans les nombreuses inoculations cornéennes qu'au cours de mes recherches sur la constance et la spécificité des corpuscules vacciniques, j'ai eu l'occasion de pratiquer en blanc, soit avec des matériaux aseptiques, soit avec des vaccins absolument purs (exempts de germes étrangers), il ne m'est jamais arrivé d'observer un cas d'infection. D'autre part, j'ai pu constater que les impuretés habituelles inévitables du vaccin (germes étrangers d'espèces banales, germes pyogènes atténués), demeurent sans aucun effet sur l'œil ; c'est tout au plus si elles provoquent des opacités de la cornée et des injections conjonctivales légères et de courte durée (24-48 heures). [A ce propos, je dois rappeler que la purification que subit le vaccin, au sein de l'épithélium de la cornée, est surprenante [11].]

Ce n'est que dans le cas où le vaccin contenait des germes pyogènes virulents que j'ai pu observer des réactions inflammatoires précoces (dans les 24 heures), intenses et persistantes de l'œil (larmoiement, cisposité, photophobie, conjonctivite, kératite, phlegmons de la cornée, parfois hypopion et même panophtalmie). En nous basant donc sur l'apparition ou l'absence de graves phénomènes phlogistiques dans les trois premiers jours qui suivent l'inoculation cornéenne, nous nous mettons dans la possibilité d'acquérir des critériums sur l'état de pureté d'un vaccin.

Cet essai en bloc, qui me paraît suffisant pour les cas ordinaires, est évidemment beaucoup plus expéditif que l'examen analytique bactériologique des cultures et des inoculations, auquel on est obligé de recourir, dans les cas spéciaux, pour déceler une infection accidentelle du vaccin par certains germes pathogènes (tétanos, charbon, etc.).

La rapidité de l'essai en bloc est encore bien plus appréciable lorsqu'il s'agit de vaccins riches en germes ; tels sont les vaccins récemment recueillis, dont l'examen bactériologique qualitatif prend beaucoup trop de temps.

Il est vrai qu'en réalité, on laisse généralement vieillir le vaccin dans la glycérine avant de s'en servir, afin de le purifier de la plus grande partie des germes étrangers ; mais du moment que nous disposons, dans les essais cornéens, d'un moyen rapide de constater l'absence de germes pyogènes virulents dans un vaccin, fut-il surchargé de germes étrangers, nous ne voyons pas la nécessité d'arriver à un vieillissement *inutile et dangereux* de vaccins, qui *ab initio* peuvent être déjà assez purs et dont la conservation prolongée dans la glycérine ne fait qu'atténuer l'efficacité immunisante.

c) *Rapidité du résultat.* — Par le seul fait de pouvoir, dans la majorité des cas, être substitué avantageusement au contrôle par l'examen bactériologique du vaccin, le contrôle complexif *biologique* du vaccin par la méthode de l'inoculation cornéenne se trouve constituer un moyen plus expéditif que les méthodes cutanées. Même au seul point de vue de la révélation de l'efficacité, la méthode de l'inoculation cornéenne ne le cède pas aux autres méthodes sous le rapport de la rapidité, surtout quand on exécute l'examen microscopique par le procédé du raclage. Grâce à ce procédé, on peut, dans les cas ordinaires, juger de l'activité du vaccin au bout de trois jours (comme par la méthode Calmette qui est déjà plus expéditive que celle des inoculations sur la génisse), parfois même au bout de 24 heures déjà, quand il s'agit d'un vaccin très actif.

*
* *

Pour conclure, nous estimons qu'étant données les imperfections inhérentes à toutes les méthodes que nous possédons pour contrôler le vaccin antivariolique, la méthode qui consiste dans l'inoculation de la cornée nous paraît être celle qui (lorsqu'elle est bien pratiquée) présente le moins d'inconstance et le plus de précision au point de vue des critériums qu'elle fournit pour déterminer le degré d'activité du vaccin.

Elle offre, en outre, le moyen de vérifier, également par voie biologique, l'état de pureté du vaccin (c'est-à-dire son contenu en germes pyogènes virulents) et de rendre superflus, le plus souvent, l'examen bactériologique, ainsi que le *vieillissement excessif et nuisible* du vaccin même. — Tous ces avantage de la méthode d'inoculation cornéenne dérivent d'un ensemble de circonstances, qui, dans les autres méthodes, font défaut (champ d'opération

exempt de vaisseaux et à l'abri des contaminations extérieures; examen microscopique des altérations histo-pathologiques; emploi de quantités minima de matière d'inoculation, etc.). Naturellement, pour que la méthode en question donne ce qu'on en attend, il importe qu'elle soit appliquée avec soin et qu'on sache en apprécier convenablement les résultats. Et cela, il faut l'avouer, demande *une technique, une pratique et une critique, moins simples et moins courantes* que celles exigées par les méthodes d'inoculation cutanée.

* * *

Voici maintenant comment peut se résumer la méthode d'inoculation de la cornée pour le contrôle biologique du vaccin antivariolique.

A. — Exécution de la méthode

1° Inoculation de trois lapins (c'est-à-dire de six cornées) pour chaque vaccin.

2° Piqûres pratiquées le plus superficiellement possible et, de préférence, sur la partie centrale de la cornée.

3° Observation quotidienne (jusqu'au troisième jour) du processus macroscopique, dans le but *principal* de contrôler la pureté du vaccin.

4° Examen microscopique des cornées dans les stades de proéminences ou d'ulcérations épithéliales (ou bien aussi dans la période de rémission des phénomènes phlogistiques, quand il s'agit de vaccin impur), dans le but de contrôler l'activité du vaccin.

B. — Appréciation des résultats

Étant donnée la précision de la méthode d'inoculation cornéenne, il est impossible de passer en revue les différentes modalités des réactions macroscopiques et microscopiques qui correspondent aux différentes gradations de l'activité et de la pureté des vaccins. Il suffira donc que, pour rendre facile l'appréciation des résultats, je fasse, dans le tableau suivant, l'exposé des critériums généraux.

Qualité du vaccin.	*Résultats macroscopiques.*	*Résultats microscopiques.*
Vaccin normal (aux points de vue de l'activité et de la pureté).	Proéminences épithéliales se produisant au bout de 24 à 48 heures (Pl. XI, fig. 3). Ulcérations épithéliales au bout de trois jours (Pl. XI, fig. 4). Absence de symptômes inflammatoires, excepté une ternissure superficielle, légère et limitée de la cornée.	Dès l'apparition des proéminences épithéliales : hyperplasie de l'épithélium et corpuscules vacciniques (Pl. XIII, fig. 7 et 8). Absence totale, ou presque totale de leucocytes.
Vaccin affaibli.	Les altérations macroscopiques susdites se produisent un peu plus tard et sont moins prononcées, même au point de passer inaperçues. Il arrive parfois que les altérations tant macroscopiques que microscopiques ne se manifestent pas sur toutes les cornées inoculées et qu'elles font sur certaines cornées complètement défaut. N.B. — Dans le cas où l'inoculation donne un résultat tout à fait normal (c'est-à-dire propre aux vaccins énergiques) pour certaines cornées, et pour certaines autres un résultat tout à fait négatif, il faut en chercher l'explication dans l'emploi d'un vaccin ou excessivement dilué, ou préparé d'une manière insuffisamment homogène, plutôt que dans l'emploi d'un vaccin affaibli.	Les altérations microscopiques susdites sont plus limitées et se produisent plus tard (du 4e au 6e jour).
Vaccin impur (contenant des germes pyogènes).	Phénomènes phlogistiques *précoces*, *graves*, et *persistants* de la cornée, de la conjonctive et parfois aussi des autres parties de l'œil (Pl. XI, fig. 2).	La constatation des susdites altérations vacciniques microscopiques n'est possible que dans quelques cas ou sur quelques-unes des cornées inoculées, notamment dans le stade de rémission du processus phlogistique. Présence de nombreux leucocytes mêlés aux corpuscules vacciniques (Pl. XII, fig. 6).

En considérant donc :

a) Qu'en présence de l'actuelle et incontestable résurrection de la variole, il est nécessaire d'employer des vaccins doués d'un pouvoir immunisant très élevé ;

b) Qu'il est possible, étant donnés les moyens de propreté et d'asepsie dont nous disposons, de se procurer du vaccin très récent et pour cela même très énergique, mais exempt de germes pyogènes virulents, quoique riche en germes étrangers, il me paraît juste de conseiller de ne pas faire usage de vaccins affaiblis ou de vaccins impurs, et de ne se servir que *de vaccins qui aux inoculations cornéennes donnent, sur toutes les cornées inoculées, un résultat normal tant au point de vue de l'activité qu'au point de vue de la pureté.*

BIBLIOGRAPHIE

1. Gorini. Il controllo del vaccino mediante le inoculazioni corneali (Travail exécuté dans les « Laboratori di Sanità Pubblica del Ministero dell' Interno » à Rome). *Archivio per le Scienze Mediche*, Torino, 1898, XXIII, p. 127. *Atti dei Laboratori della Sanita Pubblica*, Roma, 1899. — 2. Ces différentes recherches se trouvent exposées *passim* dans plusieurs notes que j'ai présentées à la Reale Accademia dei Lincei de Rome (*Comptes rendus* des années 1900 et 1901) et à la Reale Accademia Medica di Roma (*Bulletin* de l'année 1901) et qui ensuite ont paru dans les *Archives de parasitologie*, Paris, 1901, IV, p. 240 (2 planches) et dans *Centralblatt für Bakteriologie*, etc., 1900, XXVIII, p. 233; 1901, XXIX, p. 589 (2 planches); et 1902, XXXII, p. 111 (2 planches). — 3. Paul. Ueber rationelle Gewinnung eines reinen animal. Impfstoffes *Œsterreich. Sanitätwesen.* 1896, 43 (Beilage), p. 167.— 4. Calmette & Guérin. Recherches sur la vaccine expérimentale. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, XV, 1901, p. 161. — 5. Benoit & Roussel. De la vaccine jennérienne chez le cobaye. Note à la *Soc. de biologie*, 29 juin 1901. Des défaillances de la vaccination antivariolique avec le vaccin animal. *Revue d'hygiène*, XXIV, 1902.— 6. Guarnieri. Sulla eziologia e patogenesi dell' infezione vaccinica e vajolosa. *Archivio per le scienze mediche*, 1892, p. 403. — 7. *Loco citato.* — 8. Denier. La vaccine chez le lapin. *Ann. d'hygiène publique*, XLIV, 1901, p. 356.— 9. *Loc. cit.* — 10. Dans : Benoit & Roussel. *Loc. cit.* — 11. Gorini. Ricerche sul vaccino sperimentale. Supplemento al *Policlinico*, VII, 1901, p. 883. — 12. Benoit & Roussel. *Loc. cit.* — 13. Wasielewski. I. Ueber die Form und Färbbarkeit der Zelleinschlüsse bei Vaccineimpfungen. *Centralblatt f. Bakteriol.*, 1897, XXI, p. 901. II. Beiträge zur Kenntniss des Vaccine-Erregers. *Zeitschr. f. Hygiene*, 1901, XXXVIII, p. 212.

EXPLICATION DES FIGURES

Pl. XI, fig 1. — Cornée normale de lapin.

Pl. XI, fig. 2. — Cornée inoculée avec du vaccin impur (c'est-à-dire contenant des germes pyogènes).

Pl. XI, fig. 3 et 4. — Cornée inoculée avec du vaccin pur (c'est-à-dire exempt de germes pyogènes).

Fig. 3. — Premier stade : proéminences épithéliales.

Fig. 4. — Deuxième stade : ulcérations épithéliales avec ternissure superficielle de la cornée.

Pl. XII, fig. 5. — Épithélium cornéen normal avec sa membrane basale.

a) Coupe.

b) Couche de cellules profondes (cylindriques).

c) Couches de cellules supérieures (les moyennes sont polygonales, les superficielles sont aplaties).

Pl. XII, fig. 6. — Épithélium cornéen inoculé avec du vaccin impur (coupe).

a) Corpuscules vacciniques (*cytoryctes vaccinae* de Guarnieri).

b) Leucocytes intercellulaires.

c) Leucocytes endocellulaires.

Pl. XIII, fig. 7 et 8. — Épithélium cornéen inoculé avec du vaccin pur.

(Fig. 7, coupe. -- Fig. 8, raclage.)

a) Corpuscules vacciniques simples.

b) Corpuscules vacciniques à rosette (parasites en sporulation, selon Guarnieri).

Les figures 1 à 4 ont été prises sur le vif, les paupières ayant été écartées à l'aide du blépharostate.

Les fig. 5 à 8 ont été dessinées au microscope (de la maison Koristka de Milan; longueur du tube : 160 mm., oc. comp. 4, obj. a imm. omg. 1/15 semi-apoc.).

Les préparations des coupes, fig. 5 à 7, ont été fixées au sublimé acétique et colorées à l'hématoxyline de Delafield.

La préparation par raclage, fig. 8, a été colorée à la safranine.

Dans les figures 6 et 7 on aperçoit aussi le parcours de l'aiguille qui traverse le foyer vaccinal.

MACON, PROTAT FRÈRES, IMPRIMEURS



MACON, PROTAT FRÈRES, IMPRIMEURS